

Title	Glucagonostatic and Insulinotropic Action of Glucagonlike Peptide 1— (7—36) —Amide
Author(s)	小松, 良哉
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37419
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【31】

氏名・（本籍）	こ	まつ	りょう	や
	小	松	良	哉
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9 2 8 1	号	
学位授与の日付	平成 2 年 7 月 11 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学位論文題目	Glucagonostatic and Insulinotropic Action of Glucagonlike Peptide 1-(7-36)-Amide (Glucagonlike Peptide 1-(7-36)-Amideのグルカゴン分泌 抑制作用及びインスリン分泌促進作用)			
論文審査委員	(主査)			
	教授 垂井清一郎			
	(副査)			
	教授 矢内原千鶴子 教授 荻原 俊男			

論文内容の要旨

〔目 的〕

膵A細胞や消化管のL細胞（Glucagon-like immunoreactivity:GLI 分泌細胞）には共通の前駆体としてpreproglucagon が存在する。このpreproglucagon のC端よりには、glucagon-like peptide-1(GLP-1)とglucagon-like peptide-2(GLP-2)が存在する。GLP-1, GLP-2 は glucagon 類似のアミノ酸構造を有し、種差がほとんどなく重要な意義を有していると考えられるが、その生理作用については明らかにされていない。最近、当教室において、グルコースを消化管内へ注入した際に、GLI とともにGLP-1免疫活性物質も放出されることが明らかにされ、GLP-1 は糖質を経口摂取した場合に腸管より血中に分泌され、インスリン分泌を刺激する incretin の一つになりうる可能性が考えられるようになった。また、GLP-1の生体内における活性型はGLP-1(7-36)amideである可能性が示唆されている。そこで、full sequence のGLP-1(1-37)と、GLP-1(7-36)amide 及びGLP-2 のインスリン分泌、グルカゴン分泌に対する作用を高濃度、低濃度のグルコース存在下において比較検討した。

〔方 法〕

体重約 200g のSD雄ラットを一夜絶食下に Grodskyの方法に準じて膵灌流標本を作成し、4.5%デキストラン、0.1%ウシアルブミンを含むKRBG 緩衝液を95%O₂、5%CO₂ 混合ガス飽和下に37℃に維持しながら、流速2ml/min で灌流した。高グルコース濃度として11.2mM、低濃度としては2.8mMを用いて20分間の前灌流を行なった後、GLP-1(7-36)amide、GLP-1(1-37)及びGLP-2を含む灌流液にきりかえ、15分後に再び元の灌流液に戻した。門脈よりの灌流液を1分毎に、検体1ml 当りEDTA-2Na 1mg、アプロチニン500単位添加の試験管に分画採取し、測定まで-20℃で保

存した。インスリンはファデセフィンズリンRI A キット(シオノギ)を用いラットインスリンを標準とした二抗体法, glucagon immunoreactivity (GI) は, グルカゴンC端特異抗体AGS 18を用いるラジオイムノアッセイにて測定した。

〔成績〕

- 1) GLP-1(7-36)amide の灌流は0.025nM, 0.25nM, 2.5nMと25nMの四種の濃度について施行した。25nMの灌流濃度では, 高グルコース条件下においてインスリンは灌流前値(0分) 90.6 ± 21.6 pMから灌流後2分で 312.0 ± 94.9 pM, 10分で 351.6 ± 100.7 pMと著明に分泌が促進された。これに対し, グルカゴンは, 0分 68.5 ± 9.0 ng/L から2分で 41.5 ± 11.5 ng/L, 10分で 42.5 ± 9.0 ng/Lと逆に分泌抑制が認められた。低グルコース条件下でもインスリンは灌流前値(0分)が 14.4 ± 2.6 pMと低値であるものの, 灌流刺激後には2分で 59.0 ± 16.5 pM, 15分で 50.3 ± 11.5 pMと基礎値の数倍に及ぶ分泌促進が認められた。一方, グルカゴン分泌は, 0分 196 ± 32.5 ng/L から5分で 87 ± 23.5 ng/Lと強力に抑制された。
- 2) 各種濃度のGLP-1(7-36)amideのインスリン分泌促進, グルカゴン分泌抑制効果を比較するために, 0分を前値として刺激中15分間の変化分の面積を $\Sigma \Delta \text{IRI}$, $\Sigma \Delta \text{GI}$ として, ペプチド無添加のコントロールと比較検討した。高グルコース条件下では0.025nMの低い濃度でもインスリン分泌の増加が認められた。低グルコース条件下では, 0.025より2.5nMまでの低濃度ではインスリン分泌は変化せず, 25nMで初めて有意なインスリン分泌刺激効果が認められた。即ちGLP-1(7-36)amideのインスリン分泌刺激作用にはグルコース依存性があり, グルコース濃度の増加に伴い感受性が増加した。一方, グルカゴン分泌に関しては, 高, 低グルコース両条件下ともに0.25nM以上で著明にグルカゴン分泌が抑制され, その作用はグルコース濃度に依存しなかった。
- 3) GLP-1(1-37), GLP-2は, 25nMの最高灌流濃度でも高低両グルコース濃度下のインスリン, グルカゴン分泌に対し, 有意な影響を与えなかった。

〔総括〕

- 1) GLP-1(7-36)amideは, 高グルコース条件下においては0.025nM以上の濃度で, 低グルコース条件下では, 25nMで初めて有意なインスリン分泌刺激作用を示しグルコース依存性のインスリン分泌刺激作用を示した。
 - 2) GLP-1(7-36)amideは, 0.25nM以上の濃度でグルコース濃度に関わらず, グルカゴン分泌を強力に抑制した。
- 現在, インスリン分泌刺激作用をもつ消化管ホルモンとしてgastric inhibitory polypeptide (GIP)をはじめ数種類のペプチドが報告されているが, いずれにもグルカゴン分泌抑制作用は認められていない。GLP-1(7-36)amideはほぼ同等の感受性をもってインスリン分泌刺激, グルカゴン分泌抑制の両作用を示す特異なペプチドであることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

膵A細胞や消化管L細胞には共通の前駆体として preproglucagon が存在する。そのC端側には, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) が内在するが, その生理作用については明らかにされていない。本研究はラット膵灌流標本を用い, GLP-1(7-36) amide が, 高グルコース条件下においては 0.025nM 以上の濃度で, 低グルコース条件下では, 25nM で有意にインスリン分泌を促進し, グルコース依存性のインスリン分泌刺激作用を示すだけでなく, 0.25 nM 以上の濃度でグルコース濃度に拘らず, グルカゴン分泌を強力に抑制することを明らかにした。これまで, インスリン分泌刺激作用をもつ消化管ホルモンとして gastric inhibitory polypeptide (GIP) をはじめ数種類のペプチドが報告されているが, いずれにもグルカゴン分泌抑制作用は認められていない。本研究は, GLP-1(7-36) amide がほぼ同等の感受性をもってインスリン分泌刺激, グルカゴン分泌抑制の両作用を示す特異なペプチドであることを明らかにした点で重要であり, 学位に値すると判断される。